

БІОІНФОРМАЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ЗВОРОТНОГО І НЕЗВОРОТНОГО НАКОПИЧЕННЯ ЗАЛІЗА В *PROTEOBACTERIA* ТА *ACTINOBACTERIA*

С. В. ГОРОБЕЦЬ, О. Ю. ГОРОБЕЦЬ, І. В. ДЕМ'ЯНЕНКО, О. В. СЛИВЕЦЬ

Національний технічний університет України «КПІ»,
факультет біотехнології та біотехніки,
03056, Київ, пр. Перемоги 36,
e-mail: pitbm@ukr.net

Методами біоінформаційного аналізу було класифіковано представників типів *Proteobacteria* і *Actinobacteria* на чотири групи по відношенню до наявності білків гомологів Mat-білків магнітоаксисних бактерій, які забезпечують синтез біогенних магнітних наночастинок (БМН), та феритину та/або ферити-подібних білків. Проаналізовано наступні фактори, які визначають той чи інший фенотип у бактерій типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria*: середовище існування, умови існування, рухливість, наявність магнітної фази в середовищі, механізми міжклітинної взаємодії. Показано, що БМН можуть забезпечувати магнітоаксис, виступати в якості специфічної міжклітинної взаємодії та взаємодії з парамагнітними компонентами середовища, забезпечувати захват та накопичення ефективнопарамагнітних та парамагнітних внутрішньоклітинних та зовнішньоклітинних компонент (гранул, везикул, вакуолей, мікро- та нанобульбашок тощо), захист клітин мікроорганізмів від надлишків іонів заліза та для патогенів та умовних патогенів наявність БМН забезпечує захист від імунної відповіді хазяїна. Таким чином наявність БМН у мікроорганізмів є фактором, який підвищує імовірність їх виживання на ряду з іншими мікроорганізмами.

Ключові слова: біогенні магнітні наночастинок, типи *Proteobacteria* і *Actinobacteria*, феритин, біоінформаційний аналіз

Вступ. Біогенні магнітні наночастинок (БМН) є об'єктом інтенсивних досліджень з 1975 року, коли вони вперше були виявлені в магнітоаксисних бактеріях (МТБ) (Frankel et al., 1979). За цей час розшифровано геноми МТБ та виділено гени, які відповідають за біомінералізацію БМН, так званий магнітосомний острівцевий (МО) МТБ та описано процес біомінералізації БМН (M. Winklhofer, 2005; Matsunaga et al., 2007). В МТБ біомінералізація кристалів магнетиту (Fe_3O_4) або грейгіту (Fe_3S_4) відбувається в магнітосомній органелі, що являє собою ліпідну везикулу, і локалізується в пристінній області цитоплазматичної мембрани (M. Winklhofer, 2005; Matsunaga et al., 2007; Grünberg et al., 2004; Richter et al., 2007; Arakaki et al., 2008).

БМН виявлено у представників усіх трьох царств організмів: прокариотах, еукаріотах та археях (Frankel et al., 1979; M. Winklhofer, 2005; Matsunaga et al., 2007; Grünberg et al., 2004; Richter et al., 2007; Arakaki et al., 2008; Hsu et al., 2007; Maher, 1998; Hsu and Chan, 2011; Cranfield et al., 2004; Mann et al., 1988; Lowenstam, 1973), зокрема, в комах (Hsu et al., 2007; Maher, 1998; Hsu and Chan, 2011; Cranfield et al., 2004), птахів (Frankel et al., 1979; Walcott et al., 1979), риб (Mann et al., 1988) у ссавців (Lowenstam, 1973) та в тканинах людини (Kobayashi et al., 1997; Brem et

al., 2006; Moos, 2004; Bartzokis and Tishler, 2000; Lovell et al., 1998; Burdo and Connor, 2003; Grassi-Schultheiss et al., 1997; Kirschvink, 1981; Beyhum et al., 2005; Collingwood and Dobson, 2006; Kirschvink et al., 1982; Brem et al., 2006). У людини БМН знайдено в надниркових залозах (Kirschvink, 1981), серці, печінці, селезінці (Grassi-Schultheiss et al., 1997) та в головному мозку (Collingwood and Dobson, 2006; Brem et al., 2006). В роботах (Gorobets et al., 2014; Gorobets and Gorobets, 2012; Горобець та ін., 2013) вперше передбачені функції БМН як в бактеріях, так і в багатоклітинних організмах за допомогою методів біоінформатики та модельних експериментів в області магнітохімії. Показано, що БМН слугують не лише для навігації в геомагнітному полі, але й для регуляції метаболічних процесів в клітині шляхом впливу неоднорідного магнітного поля, створеного БМН, на кластерні компоненти в клітині (Gorobets et al., 2014). До недавнього часу існувало дві точки зору, перша – що за процес біосинтезу БМН в клітинах відповідає феритин (Hsu and Chan, 2011) і друга – що феритин не має відношення до цього процесу (Brem et al., 2006). Але дослідження проведені в роботі (Горобець та ін., 2013) показали, що біомінералізація БМН відбувається незалежно від наявності феритину, так як не у всіх МТБ є феритин та/або феритин-подібні білки, хоча фенотиповий прояв

біомінералізації БМН присутній у всіх МТБ. На даний момент з цього питання вивченими є мікроаерофільні та анаеробні бактерії (Горобець та ін., 2013).

Відомо, що феритин здійснює зворотне накопичення іонів заліза, тобто забезпечує його швидке зв'язування-вивільнення в метаболічних процесах (Elizabeth, 2003). Однак, в процесі біомінералізації БМН залізо зв'язується незворотно (Nudelman and Zarivach., 2014) в складі хімічно стійких мінералів (магнетиту, грейгіту тощо (Agakaki et al., 2008). При цьому генетичною основою біомінералізації БМН у багатоклітинних організмів є білки гомологи *mam*-білків МО МТБ (Gorobets et al., 2014). Але незворотне накопичення заліза в процесі біомінералізації БМН впливає не тільки на метаболічні процеси в клітинах (Gorobets et al., 2014; Горобець та ін., 2013), а й на взаємодію клітин та мікроорганізмів між собою та з іншими клітинами, векторними системами для доставки ліків та ін. (Gorobets et al., 2014; Горобець и др., 2013; Горобець та ін., 2014). Досліджено (Kobayashi et al., 1997; Brem et al., 2006; Moos, 2004; Bartzokis and Tishler, 2000; Lovell et al., 1998; Burdo and Connor, 2003; Beyhum et al., 2005; Collingwood and Dobson, 2006; Kirschvink et al., 1982; Brem et al., 2006), що білки людини (які є гомологами білків МО МТБ) задіяні в патогенезі низки нейродегенеративних та онкологічних захворювань, які характеризуються підвищеною кількістю БМН. Загалом баланс заліза в організмі – важливий фактор метаболізму в нормі і патології, без врахування незворотного накопичення заліза (в процесі біомінералізації БМН) неможливо змоделювати гомеостаз заліза в організмі. Для розуміння процесів, які впливають на рівень біомінералізації БМН у людини в нормі і при патологіях, а відповідно впливають на метаболізм, клітин-клітинну взаємодію, важливо дослідити метаболічні шляхи зворотного та незворотного накопичення заліза для різних типів мікроорганізмів (модельні об'єкти).

Метою даної роботи є встановлення потенційних продуцентів БМН бактерій типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria*, (серед яких більшість належить до аеробів), класифікація представників цих типів за наявністю гомологів білків МО МТБ та наявністю феритину і феритин-подібних білків в їх протеомах, а також аналіз факторів, які можуть визначати той чи інший фенотип.

Біоінформаційний аналіз співіснування гомологів білків МО МТБ та феритину у представників типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria*. Для цього методами

порівняльної геноміки досліджено представників типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria* на наявність в їх геномах генів феритину та/або генів-гомологів *mam*-білків МТБ, без яких не можлива біомінералізація БМН. Для аналізу було обрано лише ті бактерії, які мають повністю розшифрований геном в базі даних GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) для уникнення отримання недостовірних результатів. Повний перелік мікроорганізмів представлено у таблиці 1.

Дослідження проводили в два етапи. На першому етапі було виявлено потенційних продуцентів БМН біоінформаційними методами. Для цього було проведено вирівнювання *mam*-білків бактерії *Magnetospirillum gryphiswaldense* з трансльованими повними геномами бактерій родин типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria*, використовуючи програму blastp «BLAST online» за стандартних параметрів, що є вільним програмним ресурсом Національного центру біотехнологічної інформації (National Center for Biotechnology Information; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Гомологію досліджували з наступними білками *M. gryphiswaldense*, а саме *mamB*, *mamM*, *mamA*, *mamE*, *mamO*, *mamN* (без яких процес біомінералізації не є можливими) та *mamK*, *mamQ*, *mamZ*, *mamH* (регуляторні білки). Всі ці білки є древніми білками тому, що мають гомологів у представників усіх трьох царств організмів: прокаріот, еукаріот та архей (Горобець та ін., 2013).

На наступному етапі було проведено класифікацію на наявність феритину та/або феритин-подібних білків у протеомі досліджуваних бактерій (Табл. 1).

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що мікроорганізми типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria* можна умовно класифікувати на 4 групи. В першу групу (15 мікроорганізмів) увійшли ті представники, які містять гомологи *mam*-білків *M. gryphiswaldense*, тобто вони є потенційними продуцентами БМН, та містять білок феритину та/або феритин-подібні білки (Таблиця 2). В другу групу (9 мікроорганізмів) увійшли мікроорганізми, які містять тільки гомологи *mam*-білків *M. gryphiswaldense*, тобто феритин та/або феритин-подібні білки відсутні (Таблиця 3). До третьої групи (3 мікроорганізми) віднесено бактерії, які мають власний феритин та/або феритин-подібні білки, але не мають білків гомологів *mam*-білків МО МТБ. В процесі дослідження виявилось, що бактерії *Acidimicrobium ferrooxidans* DSM 10331, *Brucella abortus* bv. 1 str. 9-941 та *Catenulispora acidiphila* DSM 44928 відносяться до цієї групи.

Proteobacteria

Bartonella bacilliformis KC583
Brucella abortus bv. 1 str. 9-941
Brucella abortus S19
Brucella melitensis bv. 1 str. 16M
Brucella suis 1330
Caulobacter crescentus CB15
Caulobacter sp. K31
Mesorhizobium ciceri biovar *biserrulae* WSM1271
Phenylobacterium zucineum HLK1
Asticcacaulis excentricus CB 48
Bartonella clarridgeiae 73
Beijerinckia indica subsp. *indica* ATCC 9039
Brevundimonas subvibrioides ATCC 15264
Brucella abortus A13334
Caulobacter crescentus NA1000
Caulobacter seignis ATCC 21756
Hyphomicrobium denitrificans INES1
Hyphomicrobium denitrificans ATCC 51888
Hyphomicrobium nitrativorans NL23
Mesorhizobium australicum WSM2073
Mesorhizobium loti MAFF303099
Ochrobactrum anthropi ATCC 49188
Parvularcula bermudensis HTCC2503
Pelagibacterium halotolerans B2

Actinobacteria

Bifidobacterium bifidum BGN4
Bifidobacterium bifidum PRL2010
Mobiluncus curtisii ATCC 43063
Magnetococcus marinus MC-1
Cryptobacterium curtum DSM 15641
Gardnerella vaginalis ATCC 14019
Gardnerella vaginalis HMP9231
Acidimicrobium ferrooxidans DSM 10331
Arcanobacterium haemolyticum DSM 20595
Atopobium parvulum DSM 20469
Bifidobacterium bifidum S17
Bifidobacterium dentium Bd1
Catenulispora acidiphila DSM 44928
Coriobacterium glomerans PW2
Gardnerella vaginalis 409-05
Streptomyces hygroscopicus subsp. *jinggangensis* 5008

Відповідно остання (четверта) група бактерій (13 мікроорганізмів), які не мають гомологів mat-білків MO МТБ та не містять власного феритину та/або феритин-подібних білків, а саме: *Bifidobacterium bifidum* BGN4, *Bifidobacterium bifidum* PRL2010, *Bifidobacterium bifidum* S17, *Brucella abortus* A13334, *Brucella abortus* S19, *Brucella suis* 1330, *Caulobacter crescentus* NA1000, *Caulobacter* sp. K31, *Gardnerella vaginalis* 409-05, *Gardnerella vaginalis* ATCC 14019, *Gardnerella vaginalis* HMP9231, *Mesorhizobium ciceri* biovar *biserrulae* WSM1271, *Mobiluncus curtisii* ATCC 43063.

Відомо, що для забезпечення своєї життєздатності всі мікроорганізми мають різні механізми для взаємодії з іншими мікроорганізмами або клітинами-хазяїнами (симбіоти та паразити) та різні механізми рухомої реакції у відповідь на стимули: світло (фототаксис), температуру (термотаксис), вологу (гідротаксис), зміну концентрації хімічних речовин (хемотаксис), магнітне поле (магнітотаксис) і т.д. З цієї точки зору функціями БМН є:

1) Магнітотаксис як різновид таксису (Frankel, 1981). Наприклад, магнітотаксис МТБ – це рух по лініям геомагнітного поля в мул, де більше поживних речовин (Frankel, 1981).

2) Взаємодія БМН, як з магнітними складовими самого середовища так і з магніточутливими структурами в складі інших клітин та мікроорганізмів як різновид специфічної взаємодії (Горобець и др., 2013). Наприклад, для магніточутливих штамів симбіонтів людини – взаємодія з раковими клітинами, що містять БМН (Горобець та ін., 2014).

3) Магнітний захват та накопичення ефективно парамагнітних внутрішньо та зовнішньо клітинних кластерних компонент (гранул, везикул, вакуолей, мікро- та нанобульбашок тощо) (Gorobets et al., 2014; Cranfield et al., 2004). Наприклад, магнітне концентрування може бути задіяне в складі імунної, транспортної та сенсорної систем.

4) Захист клітин мікроорганізмів від надлишків іонів заліза, так як відомо, що в процесі біомінералізації БМН, організм намагається захиститись від надлишку іонів заліза (незворотне накопичення заліза), так як відомо, що процес біомінералізації БМН пов'язаний з рівнем реактивних форм кисню та залежить від умов існування бактерій та особливостей їх метаболізму, оскільки іони заліза, потрапивши у кристалічну решітку БМН, не беруть участь в реакції Фентона утворення реактивних форм кисню (Nudelman and Zarivach., 2014).

Табл. 2.
Значимі вирівнювання між білками МО МТБ
бактерії *M. gryphiswaldense* та представниками
minis Proteobacteria та Actinobacteria (перша група).

Tab. 2.
Significant alignments among MO MTB proteins of *M.*
***gryphiswaldense* bacteria and Proteobacteria and**
Actinobacteria species (the first group).

Штам мікроорганізму	E-value (I, % / P, %)					тип феритину
	Proteins of <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1					
	MamA	MamB	MamM	MamO	Mam E	
<i>Asticcacaulis excentricus</i> CB 48	-	9e-17 (24/48)	8e-19 (31/46)	2e-08 (31/49)	4e-31 (42/61)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Bartonella clarridgeiae</i> 73	2e-06 (21/46)	5e-14 (27/51)	5e-12 (24/46)	3e-09 (27/47)	1e-35 (45/64)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Beijerinckia indica subsp.</i> <i>indica</i> ATCC 9039	7e-10 (30/47)	2e-22 (26/53)	2e-18 (27/45)	1e-13 (32/51)	1e-35 (42/59)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Brevundimonas</i> <i>subvibrioides</i> ATCC 15264	-	2e-10 (22/49)	3e-17 (26/44)	4e-09 (27/47)	1e-33 (42/62)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Caulobacter crescentus</i> CB15	1e-06 (22/38)	5e-09 (22/42)	2e-16 (30/48)	3e-15 (35/51)	5e-39 937/54	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Caulobacter segnis</i> ATCC 21756	6e-07 (25/45)	3e-10 (25/45)	3e-19 (29/47)	2e-13 (34/50)	2e-27 (37/53)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Hyphomicrobium</i> <i>denitrificans</i> INES1	2e-06 (28/46)	4e-12 (22/48)	5e-15 (22/45)	8e-13 (30/53)	3e-37 (44/59)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Hyphomicrobium</i> <i>denitrificans</i> ATCC 51888	4e-06 (27/46)	2e-16 (23/49)	2e-19 (25/47)	3e-08 (26/43)	1e-37 (45/60)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Hyphomicrobium</i> <i>nitrivorans</i> NL23	4e-08 (29/50)	2e-16 (25/50)	2e-15 (27/45)	1e-07 (30/44)	6e-39 (44/61)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Mesorhizobium</i> <i>australicum</i> WSM2073	2e-11 (27/43)	7e-21 (25/51)	5e-17 (27/46)	2e-09 (30/46)	9e-38 (50/63)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Mesorhizobium loti</i> MAFF303099	7e-11 (26/44)	2e-24 (27/51)	5e-18 (26/45)	1e-09 (30/47)	4e-38 (42/55)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Ochrobactrum anthropi</i> ATCC 49188	7e-10 (30/49)	4e-17 (27/50)	2e-10 (27/43)	4e-11 (27/44)	5e-38 (39/58)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Pelagibacterium</i> <i>halotolerans</i> B2	9e-09 (27/51)	3e-14 (26/49)	2e-16 (27/49)	3e-12 (31/47)	9e-35 (46/62)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Phenylobacterium</i> <i>zucineum</i> HLK1	-	4e-11 (27/48)	1e-15 (27/45)	1e-10 (31/50)	2e-31 (38/52)	BFR S1 BFR S2 DPS
<i>Streptomyces</i> <i>hygroscopicus</i> subsp. <i>jinggangensis</i> 5008	-	1e-18 (25/49)	8e-17 (28/44)	1e-07 (26/42)	3e-25 (37/53)	BFR S1 BFR S2 DPS

Табл. 3.
Значимі вирівнювання між білками МО МТБ бактерії *M. gryphiswaldense* та представниками роду *Proteobacteria* та *Actinobacteria* (друга група).

Tab. 2.
Significant alignments among MO MTB proteins of *M. gryphiswaldense* bacteria and *Proteobacteria* and *Actinobacteria* species (the second group).

Штам мікроорганізму	E-value (I, % / P, %)				
	Proteins of <i>Magnetospirillum gryphiswaldense</i> MSR-1				
	MamA	MamB	MamM	MamO	MamE
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> DSM 20595	-	2e-17 (26/48)	2e-12 (25/48)	1e-06 (28/50)	6e-30 (42/59)
<i>Atopobium parvulum</i> DSM 20469	-	4e-20 (24/51)	2e-15 (29/58)	-	5e-27 (42/61)
<i>Bartonella bacilliformis</i> KC583	4e-06 (20/47)	2e-20 (27/52)	1e-16 (26/46)	8e-10 (25/46)	7e-39 (47/65)
<i>Bifidobacterium dentium</i> Bd1	-	4e-07 (28/48)	5e-07 (26/56)	6e-08 (31/53)	2e-24 (43/60)
<i>Brucella melitensis</i> bv. 1 str. 16M	-	2e-16 (26/50)	6e-11 (25/44)	-	-
<i>Coriobacterium glomerans</i> PW2	-	9e-16 (25/50)	8e-16 (23/45)	2e-11 (26/51)	2e-28 (40/66)
<i>Cryptobacterium curtum</i> DSM 15641	-	2e-20 (26/47)	9e-21 (27/46)	6e-08 (24/43)	2e-30 (35/57)
<i>Magnetococcus marinus</i> MC-1	9e-47 (38/58)	2e-99 (46/73)	2e-95 (48/69)	1e-110 (35/51)	2e-74 (33/46)
<i>Parvularcula bermudensis</i> HTCC2503	2e-07 (27/47)	5e-16 (28/54)	2e-14 (27/45)	4e-09 (28/44)	2e-33 (40/53)

В процесі аналізу умов існування представників першої групи, було встановлено, що типовим середовищем їх існування є ґрунт та водойми, що характеризується широким спектром фізико-хімічних властивостей. Аналіз здатності до самостійного руху представників першої групи показав, що 87% з них рухливі. Тобто представники цієї групи мікроорганізмів мають різноманітні механізми таксису (джугтики, хемотаксис) в залежності від умов існування, одним з яких є магнітотаксис. Відомо (Годовиков, 1983), що практично всі ґрунти містять у своєму складі магніту фазу (ферити, феромагніти), тому при наявності БМН у представників першої групи може виконуватись друга з наведених функцій. Так як середовище існування цієї групи характеризується різним хімічним складом кластерних компонентів, то БМН можуть виконувати функцію магнітного захвату та накопичення ефективно парамагнітних компонентів, тобто виконувати третю функцію. Окрім БМН дані представники характеризуються наявністю широкого спектру механізмів адгезії, що в свою чергу забезпечує їх виживання в різноманітних умовах оточуючого середовища.

Друга група характеризується більш специфічними умовами існування, так як до її складу увійшли внутрішньоклітинні паразити, з яких лише 44 % є рухливими, тобто приблизно половина може володіти першою функцією

БМН. Так як з літературних джерел не є відомим факт наявності магнітоструктурованої фази в середовищі їх існування, то стверджувати про наявність або відсутність другої функції не є доцільним. Відомо (Красінько, 2007), що клітини організму-хазяїна містять кластери парамагнітних та ефективнопарамагнітних компонентів, тобто наявність БМН у внутрішньоклітинних паразитів сприяє накопичення поживних елементів для забезпечення нормальних умов їх життєдіяльності (третя функція).

Окрім функції взаємодії патоген-хазяїн, можна припустити, що наявність ланцюжків БМН у патогена, захищає клітини від реакції імунної системи хазяїна, шляхом незворотного зв'язування заліза (Nudelman and Zarivach., 2014) або шляхом магнітного концентрування ефективно парамагнітних кластерних компонентів клітини (Gorobets et al., 2014). Наприклад, при активації імунної відповіді на антиген, макрофаги викидають у середовище значну кількість активних форм кисню (так званий кисневий вибух) (Takahashi et al., 1991). Відомо, що кисень – парамагнетик, тому ланцюжки БМН можуть притягати до себе нанобульбашки кисню, таким чином нейтралізуючи активні форми кисню (Gorobets et al., 2014).

Представники третьої та четвертої групи характеризуються екстремальними умовами існування, наприклад, у водах гейзерів. Оскільки

середовище їх існування є відносно однорідним, то більша частина представників володіє специфічними механізмами адгезії до субстрату і лише третина з них є рухлива, тобто володіє певним різновидом таксису.

В процесі дослідження було проведено аналіз наступних факторів: середовище існування, умови існування, рухливість, наявність магнітної фази в середовищі, механізми міжклітинної взаємодії (табл. 4). В результаті було показано, що БМН можуть виступати у якості

специфічного механізму міжклітинної взаємодії на ряду з адгезією; наявність БМН у бактеріях забезпечує один з видів таксису – магнітотаксис; накопичення БМН забезпечує акумуляцію парамагнітних та ефективнопарамагнітних кластерних компонентів, що полегшує процес живлення за рахунок магнітних сил. Крім того, для патогенних та умовно-патогенних організмів БМН забезпечують захист від імунної відповіді організму хазяїна.

Табл. 4.
Характеристика факторів існування мікроорганізмів різних груп

	I (БМН+Ф)	II (БМН)	III (Ф)	IV (-)
Середовище існування	вода, ґрунт	внутрішньо-клітинні паразити	екстримальні умови	внутрішньо-клітинні паразити та симбіонти
Таксис	87% рухливі	44% рухливі	33% рухливі	30% рухливі
Взаємодія	взаємодія з магнітною фазою середовища (ґрунту)	магнітної фази в середовищі немає	магнітна фаза не типова для середовища	магнітної фази в середовищі немає
Живлення	БМН полегшує ендоцитоз за рахунок магнітної взаємодії	БМН полегшує ендоцитоз за рахунок магнітної взаємодії	лише 33% існують в середовищі з магнітною фазою	існують в відносно малих об'ємах, магнітна взаємодія не характерна

Tab. 4.
The characteristics of environmental factors for the microorganism of different groups

Висновки. Методами порівняльної геноміки вперше проведено класифікацію мікроорганізмів на чотири групи за такими ознаками як наявність/відсутність гомологів білків МО МТБ та наявність/відсутність феритину та феритин-подібних білків в їх протеомах на прикладі бактерій типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria* з відомими повними геномами. Показано, що перша група мікроорганізмів містить білки гомологи mat-білків та феритин /феритин-подібні білки, що свідчить про зворотне і незворотне накопичення заліза мікроорганізмами; друга група – містить тільки гомологи mat-білків, без яких процес біомінералізації БМН не є можливим, тобто має механізм незворотного накопичення заліза; третя група – містить лише власний феритин та/або феритин-подібні білки, тобто володіє зворотнім механізмом накопичення заліза; четверта група – немає ні гомологів mat-білків, ні феритину та/або феритин-подібних білків, тобто дані механізми накопичення заліза відсутні.

З досліджених мікроорганізмів більшість має білки гомологи mat-білків МТБ (24 мікроорганізми), це свідчить про важливість

процесу біомінералізації БМН для них. Можливо, що в процесі біомінералізації БМН, організм намагається захиститись від надлишку іонів заліза (незворотне накопичення заліза), так як відомо, що процес біомінералізації БМН пов'язаний з рівнем реактивних форм кисню в МТБ (Nudelman and Zarivach., 2014) та залежить від умов існування бактерій та особливостей їх метаболізму, оскільки іони заліза, потрапивши у кристалічну решітку БМН, не беруть участь в реакції Фентона утворення реактивних форм кисню (Nudelman and Zarivach., 2014). Одночасно з утворенням ланцюжків БМН мікроорганізм отримує можливість накопичувати кластери парамагнітних та ефективно парамагнітних речовин в околі ланцюжків БМН, що також впливає на метаболічні процеси (Gorobets et al., 2014; Gorobets and Gorobets, 2012).

Проаналізовано наступні фактори, які визначають той чи інший фенотип у бактерій типів *Proteobacteria* та *Actinobacteria*: середовище існування, умови існування, рухливість, наявність магнітної фази в середовищі, механізми міжклітинної взаємодії. Показано, що БМН можуть забезпечувати

магнітотаксис, виступати в якості специфічної міжклітинної взаємодії та взаємодії з парамагнітними компонентами середовища, забезпечувати захоплення та накопичення ефективнопарамагнітних та парамагнітних внутрішньоклітинних та зовнішньоклітинних компонент (гранул, везикул, вакуолей, мікро- та нанобульбашок тощо), захист клітин мікроорганізмів від надлишків іонів заліза та для патагенів та умовних патагенів наявність БМН забезпечує захист від імунної відповіді хазяїна. Таким чином наявність БМН у мікроорганізмів є фактором, який підвищує імовірність їх виживання на ряду з іншими мікроорганізмами.

Список літератури:

- Frankel R. B., Blakemore R.P., Wolfe R.S. Magnetite in freshwater magnetotactic bacteria // *Science*. –1979. – 203. – P. 1355–1356.
- M. Winklhofer. Biogenic magnetite and magnetic sensitivity in organisms – from magnetic bacteria to pigeons // *Magnetodynamics*. - 2005. - 41. – P. 295–304.
- Tadashi Matsunaga. Molecular analysis of magnetotactic bacteria and development of functional bacterial magnetic particles for nanobiotechnology/ Tadashi Matsunaga, Takeyuki Suzuki, Masayoshi Tanaka, Atsushi Arakaki// *Trends Biotechnol.* – 2007. – 25. – P.182-188.
- K. Grünberg. Biochemical and Proteomic Analysis of the Magnetosome Membrane in *Magnetospirillum gryphiswaldense* /K. Grünberg, E. Müller, A. Otto, etc.// *Appl Env. Mic.* – 2004. – 70. – P. 1040–1050.
- M. Richter. Comparative Genome Analysis of Four Magnetotactic Bacteria Reveals a Complex Set of Group-Specific Genes Implicated in Magnetosome Biomineralization and Function /M. Richter, M. Kube, D. A. Bazylinski, etc.// *J Bacteriol.* – 2007. – 189. – P. 4899–4910.
- Atsushi Arakaki. Formation of magnetite by bacteria and its application / A. Arakaki, H. Nakazawa, M. Nemoto, T. Mori, T. Matsunaga// *J R Soc Interface*. – 2008. – 5. – P. 977–999.
- Chin-Yuan Hsu. Magnetoreception System in Honeybees (*Apis mellifera*) / Chin-Yuan Hsu, Fu-Yao Ko, Chia-Wei Li, Kuni Fann, Juh-Tzeng Lue// *PLoS ONE*. – 2007. – 4. – e395
- B. A. Maher. Magnetite biomineralization in termites// *Proc. R. Soc. Lond.* – 1998. – 265. – P. 733-737
- Chin-Yuan Hsu, Yu-Pei Chan. Identification and Localization of Proteins Associated with Biomineralization in the Iron Deposition Vesicles of Honeybees//*PLoS ONE*. – 2011. – 6. – e19088
- Charles G. Cranfield Biogenic magnetite in the nematode *Caenorhabditis elegans* / Charles G. Cranfield, Adam Dawe, Vassil Karloukovski, Rafal E. Dunin-Borkowski, David de Pomerai and Jon Dobson// *Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl.)* – 2004. – 271. – P.436–439.
- Mann S. Ultrastructure, morphology and organization of biogenic magnetite from sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*: Implications for magnetoreception /Mann S., Sparks N.H.C., Walker M.M., Kirschvink J.L. // *J. Exp. Biol.* – 1988. – 140. – P. 35–49.
- Lowenstam H.A. Magnetite in denticle capping in recent chitons // *Geol. Soc. 11 Am. Bull.* –1973. – 2. – P. 435–438.
- Walcott C., Gould J.L., Kirschvink J.L. Pigeons have magnets // *Science*. – 1979. – 184. – P. 180–182.
- Kobayashi A., Yamamoto N., Kirschvink J. Studies of Inorganic Crystals in Biological Tissue: Magnetite in Human Tumor// Reprinted from *Journal of the Japan Society of Powder and Powder Metallurgy*. – 1997. – 44. – P. 294.
- Brem F. Magnetic iron compounds in the human brain: a comparison of tumor and hippocampus tissue/ Brem F., Hirt A.M., Winklhofer M., Frei K., Yonekawa Y., Wieser H.-G., Dobson J // *J. R. Soc. Interface*. – 2006. – 3. – P. 833–841.
- Moos T., Morgan E.H. The metabolism of neuronal iron and its pathogenic role in neurological disease: review // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2004. – P. 1012 – 1014.
- Bartzokis G., Tishler T.A. MRI evaluation of basal ganglia ferritin iron and neurotoxicity in Alzheimer's and Huntington's disease // *Cell. Molec. Biol.* – 2000. – 46. – P. 821 – 834.
- Lovell M.A, Robertson J.D, Teesdale W.J et al. Copper, iron and zinc in Alzheimer's disease senile plaques // *J. Neurol. Sci.* – 1998. – 158. – P. 47 – 52.
- Burdo J.R., Connor J.R. Brain iron uptake and homeostatic mechanisms: an overview // *Biomaterials*. – 2003. – 16. – P. 63–75.
- P.P. Grassi-Schultheiss, F. Heller, J. Dobson Analysis of magnetic material in the human heart, spleen and liver// *BioMetals* – 1997. – 10. – P. 351–355
- Kirschvink J.L. Ferromagnetic crystals (magnetite?) in human tissue// *J Exp Biol.*–1981. – 92. – P. 333-335.
- W Beyhum. Magnetic biomineralisation in Huntington's disease transgenic mice / W Beyhum, D Hautot, J Dobson, Q A Pankhurst// *Journal of Physics: Conference Series*. – 2005. – 17. – P. 50–53.
- Joanna Collingwood, Jon Dobson. Mapping and characterization of iron compounds in Alzheimer's tissue// *Journal of Alzheimer's Disease*. – 2006. – 10. – P. 215–222
- Kirschvink J.L, Tabrah F, Batkin S. Ferromagnetism in two mouse tumors.// *J Exp Biol*. – 1982. – 101. – P.321-326.
- Franziska Brem. Magnetic iron compounds in the human brain: a comparison of tumour and hippocampal tissue / Franziska Brem, Ann M Hirt, Michael Winklhofer, Karl Frei, Yasuhiro Yonekawa, Heinz-Gregor Wieser, and Jon Dobson// *J R Soc Interface*. – 2006. – 3. – P. 833–841.

26. Gorobets O.Yu., Gorobets S.V., Gorobets Yu.I. Biogenic Magnetic Nanoparticles: Biomineralization in Prokaryotes and Eukaryotes, In Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, Third Edition. CRC Press: New York, 2014, pp. 300 – 306. // DOI: 10.1081/E-ENN3-1200583 Copywrite © 2014 by Taylor & Francis.
27. Gorobets S.V., Gorobets O.Yu. Functions of biogenic magnetic nanoparticles in organisms // Journal "Functional Materials".–2012.–19. –№1. – С.18-26.
28. Горобець О.Ю., Горобець С.В., Горобець Ю.І. Біомінералізація внутрішньоклітинних біогенних магнітних наночастинок і їх можливі функції // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2013. – 3. – С. 28-33.
29. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Дем'яненко І.В. Феритин та біомінералізація біогенних магнітних наночастинок в мікроорганізмах // Наукові вісті НТУУ КПІ. – 2013. – № 3. – С. 34-41.
30. Горобець С.В. Генетична основа фундаментального механізму біосинтезу наномагнетиту у магнітотаксисних та анаеробних мікроорганізмах. /С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, Ю.М. Чиж, І.В. Дем'яненко // Науковий Вісник Чернівецького університету. Біологічні системи. – 2013. – Т.5, №2. – С.274-280.
31. Elizabeth C. Theil. Ferritin: At the Crossroads of Iron and Oxygen Metabolism // Journal of Nutrition. – 2003. – 133. – P.1549–1553.
32. Hila Nudelman, Raz Zarivach. Structure prediction of magnetosome-associated proteins // Frontiers in Microbiology. – 2014. – 5 (9). – P. 1-17
33. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Чиж Ю.М., Сивенок Д.В. Магнітодипольне взаємодія ендогенних магнітних наночастинок з магнітоліпосомами при цільовій доставці препаратів // Біофізика, 2013, том 58, вип. 3, с. 488–494.
34. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Чиж Ю.М., Бутенко К.О. Біомінералізація магнітних наночастинок бактеріальними симбіонтами людини // Медичні перспективи. – 2014. – 2.
35. R.B. Frankel,. Bacterial Magnetotaxis vs Geotaxis // Trans. Am. Geophys. Soc. – 1981. – 62. – P.850.
36. Годовиков А.А., "Минералогия", М.: "Недра", 1983. —227 с.
37. Красінько В.О. Біологія клітин: Конспект лекцій для студ. спец. 6.092900 "Промислова біотехнологія" та "Біотехнологія біологічно активних речовин" напряму 0929 "Біотехнологія" ден. та заоч. форм навчання. К.: НУХТ, 2007. –С. 140
38. Ryutaro Takahashi. Luminol Chemiluminescence and Active Oxygen Generation by Activated Neutrophils / Ryutaro Takahashi, Keisuke Edashige, Eisuke F. Sato, Masayasu Inoue, Tsuyoshi Matsuno, Kozo Utsunil// Archives of biochemistry and biophysics. – 1991. – 285(2). – P. 325-330.

BIOINFORMATIONAL ANALYSIS OF REVERSIBLE AND IRREVERSIBLE IRON ACCUMULATION IN *PROTEOBACTERIA* AND *ACTINOBACTERIA*

S.V. Gorobets, O. Yu. Gorobets, I. V. Demyanenko, O. V. Slyvets

The representatives of Proteobacteria and Actinobacteria were classified into four groups according to the presence of homologues of Mam-protein magnetotacticum bacteria that provide a synthesis of biogenic magnetic nanoparticles (BMN), and ferritin and/or ferrite-like proteins by methods of bioinformatics analysis. In this work were analyzed the following factors that define a particular phenotype in bacteria types Proteobacteria and Actinobacteria: habitat, living conditions, mobility, presence of magnetic phases in the environment, mechanisms of cell-cell interactions. It is shown that BMN may provide magnetotaxis, act as factor of specific cell-cell interactions and interactions with paramagnetic components of the environment, to ensure the capture and storage of efficiently paramagnetic and paramagnetic intracellular and extracellular components (granules, vesicles, vacuoles, and micro nanobulboshok etc.), protection of microorganisms cells from excess of iron ions and for pathens and conditional pathens availability of BMN provides protection against the host immune response. Thus the presence of BMN in microorganisms is a factor that increases the likelihood of their survival along with other organisms.

Key word: biogenic magnetic nanoparticles, Proteobacteria and Actinobacteria, ferritine, bioinformatics analysis

Одержано редколегією 19.10.2014